

English language equivalent not found for DE 196 30 738

[Display without Links](#) | [Return to Results](#)

Display from WPINDEX

ANSWER 1 © 2005 THE THOMSON CORP on STN

Title

DNA encoding invertase inhibitor - for producing transgenic plants with reduced sucrose loss on storage.

Inventor Name

GREINER, S; KRAUSGRILL, S; RAUSCH, T

Patent Assignee

(UYHE-N) UNIV HEIDELBERG

Patent Information

DE 19630738 A1 19980205 (199811)* 10 C07K014-415

Application Information

DE 1996-1030738 19960730

Priority Application Information

DE 1996-19630738 19960730

International Patent Classification

ICM C07K014-415

ICS A01H001-00; A01H005-00; C07H021-04; C12N001-00; C12N005-10; C12N009-26; C12N009-99; C12N015-29; C12N015-63; C12N015-82

Abstract

DE 19630738 A UPAB: 19980323

Nucleic acid encoding a polypeptide that reduces the enzymatic activity of an invertase is new.

Also claimed are:

- (1) a vector containing the nucleic acid;
- (2) a host cell containing the nucleic acid or vector;
- (3) a polypeptide as described above, and
- (4) a transgenic plant containing the nucleic acid.

USE - The nucleic acid is used for producing transgenic plants exhibiting reduced sucrose loss on storage, especially sugar beet or potato plants.

Dwg.0/2

Accession Number

1998-111289 [11] WPINDEX

[Full-Text Options](#)[STN Keep & Share](#)[Search the Web](#)

with





⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 196 30 738 A 1**

⑲ Aktenzeichen: 196 30 738.4
⑳ Anmeldetag: 30. 7. 98
㉑ Offenlegungstag: 5. 2. 98

⑤ Int. Cl.⁸:
C 07 K 14/415
C 12 N 15/29
C 07 H 21/04
C 12 N 15/63
C 12 N 15/82
C 12 N 1/00
C 12 N 5/10
A 01 H 5/00
A 01 H 1/00
C 12 N 9/99
C 12 N 9/28

DE 196 30 738 A 1

⑦ Anmelder:
Universität Heidelberg, 69117 Heidelberg, DE

⑦A Vertreter:
Müller-Boré & Partner, 81671 München

⑦Z Erfinder:
Rausch, Thomas, Prof. Dr., 69115 Heidelberg, DE;
Krausgrill, Silke, Dipl.-Biol., 60316 Frankfurt, DE;
Greiner, Steffen, Dipl.-Biol., 83071 Offenbach, DE

⑥ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht zu ziehende Druckschriften:
DE 42 13 444 A1
EP 04 42 592 A2
Chemical Abstracts: Vol. 124, 1996, Ref. 85318m;
Vol. 123, 1995, Ref. 281355q;
Vol. 122, 1995, Ref. 235355w;
Vol. 118, 1993, Ref. 121185c;
Datenbank BIOSIS bei STN, AN 92:338448,
Blomendahl, C., et al.: Keystone Symposium On Crop
Improvement Via Biotechnology: AN International
Perspective, Keystone, Colorado, USA, April 10-16,
1992, J. Cell Biochem. Suppl. 0 (16 Part F), 1992, 224;
Datenbank WPIDS bei STN AN 93-134022(16) zu
WO 9306711 A1;

⑥A Invertase-Inhibitoren

⑥Z Die vorliegende Erfindung betrifft eine Nukleinsäure, die mindestens eine für ein Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz enthält, wobei das Polypeptid zur Reduzierung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigt ist, das Polypeptid selbst sowie transgene Pflanzen, die diese Nukleinsäuresequenz enthalten. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Verfahren zur Herstellung von solchen transgenen Pflanzen mit reduziertem, lagerungsbedingtem Saccharose-Verlust.

DE 196 30 738 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Nukleinsäure, die mindestens eine für ein Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz enthält, wobei das Polypeptid zur Reduzierung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigt ist, das Polypeptid selbst sowie transgene Pflanzen, die diese Nukleinsäuresequenz enthalten. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Verfahren zur Herstellung von solchen transgenen Pflanzen mit reduziertem, lagerungsbedingtem Saccharose Verlust.

Während der Lagerung von Zuckerrüben (*Beta vulgaris*), im Zeitraum zwischen Ernte und Verarbeitung, kommt es durch Atmung bzw. Saccharose-Metabolismus zu einem Saccharose-Verlust von etwa 0,02% pro Tag. Mit diesem Verlust geht ferner eine signifikante Qualitätsminderung infolge der Zunahme reduzierender Zucker, insbesondere Fructose und Glucose, einher (Burba, M. (1976) Atmung und Saccharosestoffwechsel lagernder Zuckerrüben. Zeitschrift für die Zuckerindustrie 26: 647—658). Der erste metabolische Schritt beim Saccharose-Abbau während der Rübenlagerung ist die enzymatische Hydrolyse durch eine vakuoläre Invertase. Dieses Enzym wird in Rüben Gewebe nach Verwundung de novo synthetisiert (Milling, R.J., Leigh, R.A., Hall, J.L. (1993) Synthesis of a vacuolar acid invertase in washed discs of storage root tissue of red beet (*Beta vulgaris* L.). J. Exp. Bot. 44: 1687—1694). Da die Hauptmasse der Rüben-Saccharose in den Zellvakuolen lokalisiert ist, spielt die (wund-)induzierte vakuoläre Invertase eine zentrale Rolle für den lagerungsbedingten Saccharose-Verlust.

Ein lagerungsbedingter Umsatz von Saccharose zu den Hexosen Glucose und Fructose und somit ein Saccharose-Verlust findet auch während des sogenannten "cold sweetening" bei Kartoffeln statt. Infolge der Kältebehandlung wird in den Kartoffelknollen eine vakuoläre Invertase induziert, die das Verhältnis von Saccharose zu Hexosen bestimmt (Zrenner, R., Schüller, K., Sonnenwald, U. (1996) Soluble acid invertase determines the hexose-to-sucrose ratio in coldstored potato tubers. Planta 198: 246—252). Die Bildung der Hexosen als Folge des "cold sweetening" führt zu Qualitätseinbußen bei der Herstellung von beispielsweise Pommes frites.

Es gibt zur Zeit keine befriedigende Lösung für das Problem lagerungsbedingter Saccharose-Verluste (Burba, 1976). Die wichtigsten Maßnahmen im Stand der Technik bestehen in der Einhaltung niedriger Temperaturen (unter 12°C) und definierter Luftfeuchte (zwischen 90 und 96%). Jedoch sind alle bisher eingesetzten Maßnahmen zur Verminderung der lagerungsbedingten Verluste unbefriedigend.

Somit liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, ein neues System bereitzustellen, das im wesentlichen keine lagerungsbedingten Saccharose-Verluste in Pflanzen hervorruft.

Diese Aufgabe wird durch die in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstände der vorliegenden Erfindung gelöst.

Ein erster erfindungsgemäßer Gegenstand betrifft eine Nukleinsäure, die mindestens eine für ein Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz enthält, wobei das Polypeptid zur Reduzierung bzw. Erniedrigung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigt ist.

Die Begriffe "Nukleinsäure" und "Nukleinsäuresequenz" bedeuten natürliche oder halbsynthetische oder synthetische oder modifizierte Nukleinsäuremoleküle aus Desoxyribonukleotiden und/oder Ribonukleotiden

und/oder modifizierten Nukleotiden.

Der Begriff "Polypeptid" umfaßt natürlich vorkommende Polypeptide und rekombinante Polypeptide. Rekombinante Polypeptide bezeichnen ein mit molekularbiologischen Techniken hergestelltes Konstrukt, dem die natürliche DNA des originalen Genoms bzw. die natürliche DNA, modifiziert mit einer fremden DNA-Sequenz, zugrundeliegt, und rekombiniert werden kann, z. B. mit Plasmiden, und in einem geeigneten Wirtssystem repliziert und exprimiert werden kann.

Der Ausdruck "ein zur Reduzierung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigtes Polypeptid" bedeutet ein Polypeptid, welches in Folge der Bindung an eine Invertase deren enzymatische Aktivität reduziert, wobei bei ausreichender Menge des Inhibitorproteins eine vollständige Inhibition möglich ist. Vorzugsweise soll durch die Inhibitorexpression in der transgenen Pflanze eine etwa 90%ige Inhibition der vakuolären Invertase erreicht werden.

In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Invertase in einer Pflanzenzelle vakuolär lokalisiert, wobei die Invertase vorzugsweise aus der Zuckerrübe oder der Kartoffel stammt.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfaßt die Nukleinsäure die in Fig. 1 gezeigte Nukleinsäuresequenz oder Abschnitte bzw. Fragmente davon.

In einer anderen Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Nukleinsäure eine weitere, für eine Targeting-Sequenz kodierende Nukleinsäuresequenz. Der Begriff "Targeting-Sequenz" bedeutet eine Aminosäuresequenz, welche die zelluläre Zielsteuerung in ein definiertes zelluläres Kompartiment vermittelt, beispielsweise die Zielsteuerung in die Vakuole.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfaßt die Targeting-Sequenz die vakuoläre Targeting-Sequenz des Gerstenlektins mit folgender Aminosäuresequenz:

LEGVFAEIAASNSTLVAE

In einer anderen Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Nukleinsäure eine weitere, für ein Signalpeptid kodierende Nukleinsäuresequenz. Der Begriff "Signalpeptid" bedeutet eine hydrophobe Aminosäuresequenz, die vom Signalerkennungspartikel (SRP) erkannt wird. Das SRP vermittelt die Synthese des Gesamtpolypeptids am rauen endoplasmatischen Retikulum (ER), mit der Folge, daß das entstehende Polypeptid in das Lumen des ER entlassen wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform stammt das Signalpeptid von einer Invertase, vorzugsweise von der Zellwand-Invertase aus Tabak.

In einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung enthält die Nukleinsäure eine weitere Nukleinsäuresequenz, welche einen zur Expression in Pflanzen geeigneten Promotor umfaßt. Dieser Promotor bzw. Promotorsequenz stammt vorzugsweise aus der gleichen Pflanze wie die Invertase. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der Promotor ein Kartoffel- oder Zuckerrüben-spezifischer Promotor.

Zusammenfassend kann die erfindungsgemäße Nukleinsäure die vorstehend definierte, das Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz und gegebenenfalls die vorstehend definierte, eine Targeting-Sequenz kodierende Nukleinsäuresequenz und/oder die ein Signalpeptid kodierende Nukleinsäuresequenz und/oder den vor-

stehend definierten Promotor umfassen, wobei vorzugsweise alle eine Aminosäuresequenz kodierenden Nukleinsäuresequenzen im Leserahmen angeordnet sind und entsprechend dem genetischen Code degeneriert sein können.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Vektor, der die vorstehend definierte, erfindungsgemäße Nukleinsäure zur Expression des rekombinanten Polypeptids in prokaryotischen oder eukaryotischen Wirtszellen enthält. Der erfindungsgemäße Vektor kann vorzugsweise geeignete regulatorische Elemente, wie Promotoren, Enhancer, Terminationssequenzen, enthalten. Der erfindungsgemäße Vektor kann beispielsweise ein Expressionsvektor oder ein Vektor zur vorzugsweise stabilen Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in das genetische Material einer Wirtszelle sein. Ein geeignetes Expressionssystem umfaßt beispielsweise das Ti-Plasmid oder ein binäres Plasmidsystem in *Agrobacterium tumefaciens* als Vektor zur stabilen Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäure in das genetische Material einer Pflanze. Weiterhin kann die erfindungsgemäße Nukleinsäure z. B. auch durch das Ri-Plasmid von *Agrobacterium rhizogenes*, durch direkten Gentransfer mittels Polyethylenglykol, durch Elektroporation oder durch Partikelbeschuss in das genetische Material einer Pflanze eingeführt werden.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine Wirtszelle, welche die erfindungsgemäße Nukleinsäure oder den erfindungsgemäßen Vektor enthält. Geeignete Wirtszellen sind beispielsweise Prokaryonten, wie *E. coli*, oder eukaryotische Wirtszellen wie *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris* und *Baculovirus*-infizierte Insektenzellen.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand ist das Polypeptid selbst, das von der vorstehend definierten Nukleinsäuresequenz kodiert wird, wobei die Nukleinsäuresequenz entsprechend dem genetischen Code degeneriert sein kann. Das erfindungsgemäße Polypeptid enthält mindestens einen zur Reduzierung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigten Aminosäure-Sequenzabschnitt. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfaßt das Polypeptid die in Fig. 1 gezeigte Aminosäuresequenz oder Abschnitte bzw. Fragmente davon. Ferner umfaßt der Begriff "Polypeptid" beispielsweise Isoformen aus der gleichen Pflanze sowie homologe Inhibitor-Sequenzen anderer Pflanzenarten, wobei die Homologie auf Proteinebene vorzugsweise > 70% ist.

In einer erfindungsgemäßen Ausführungsform enthält das Polypeptid weiter eine am C-Terminus des Polypeptids angeordnete Aminosäuresequenz, welche eine vorstehend definierte Targeting-Sequenz umfaßt, und/oder eine am N-Terminus des Polypeptids angeordnete Aminosäuresequenz, welche ein vorstehend definiertes Signalpeptid umfaßt.

Die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz, der erfindungsgemäße Vektor sowie das erfindungsgemäße Polypeptid können durch im Stand der Technik bekannte Verfahren hergestellt werden.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine transgene Pflanze, die mindestens die vorstehend definierte, erfindungsgemäße Nukleinsäure enthält.

Der Begriff "transgene Pflanze" bzw. "Pflanze" umfaßt die ganze Pflanze als solche sowie deren Teile, wie Wurzel, Stengel, Blatt, organspezifisches Gewebe oder

Zellen, deren vermehrungsfähiges Material, insbesondere Samen, und deren Keimlinge. Ferner umfaßt dieser Begriff Stärkeknochen und -wurzeln, beispielsweise Kartoffel, Batate und Maniok, und Zuckerpflanzen, beispielsweise Zuckerrohr und Zuckerrübe, sowie Tomate und Mais.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der Wildtyp der transgenen Pflanze eine Zuckerrübe oder eine Kartoffel.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen transgenen Pflanze, worin eine Pflanzenzelle durch stabile Integration der vorstehend definierten Nukleinsäure in das genetische Material transformiert wird und die transformierte Pflanzenzelle zur transgenen Pflanze regeneriert wird. Verfahren zur Herstellung transgener Pflanzen sind im Stand der Technik bekannt.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung der vorstehend definierten Nukleinsäure zur Herstellung einer transgenen Pflanze mit reduziertem lagerungsbedingtem Saccharose-Verlust.

Erfindungsgemäß kann festgestellt werden, daß die Verminderung lagerungsbedingter Saccharose-Verluste durch die Expression des vorstehend definierten Polypeptids als "Invertase-Inhibitorprotein" in transgenen Pflanzen überraschenderweise ein hochspezifisches, umweltschonendes Verfahren zur Verbesserung von beispielsweise der Zuckerrüben- bzw. Kartoffelknollenqualität darstellt. Für die Zuckerrübe wird durch die Effizienzsteigerung der Zuckergewinnung bei vorgegebener Ertragshöhe eine Verminderung des Produktionsmitteleinsatzes ermöglicht. Im Fall der Kartoffel wird durch Reduktion der Kälte-induzierten Hexose-Bildung die Produktqualität der Kartoffeln, insbesondere für die Herstellung von Pommes frites, erhöht.

Durch die Kombination der den Invertase-Inhibitor kodierenden Nukleinsäuresequenz mit einer, eine geeigneten Targeting-Sequenz kodierenden Nukleinsäuresequenz kann beispielsweise eine korrekte vakuoläre Zielsteuerung des exprimierten Invertase-Inhibitors in die Vakuole erreicht werden und somit die Expression des Invertase-Inhibitors räumlich begrenzt werden. Ferner kann durch Verwendung von beispielsweise rüben- oder knollenspezifischen Promotoren die Expression des Invertase-Inhibitors zeitlich begrenzt werden.

Die Figuren zeigen:

Fig. 1 zeigt die den Invertase-Inhibitor kodierende c-DNA aus *Nicotiana tabacum* mit einer Länge von 1701 bp, wobei der offene Leserahmen ("open reading frame", "ORF") 477 bp mit Startnukleotid 1 umfaßt. Der von dieser Nukleinsäuresequenz kodierte Invertase-Inhibitor weist 159 Aminosäuren mit einem errechneten Molekulargewicht M_r von 18915 und einem errechneten isoelektrischen Punkt von 10,13 auf.

Fig. 2 zeigt die schematische Herstellung des Inhibitor-Konstrukts einer bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungsform zur Transformation von Pflanzen.

Durch das nachfolgende Beispiel wird die vorliegende Erfindung näher erläutert.

Beispiel

Sämtliche, im folgenden Beispiel zur Anwendung kommenden Methoden für die Herstellung der erforderlichen Genkonstrukte entsprechen Standardverfahren molekularbiologischen Arbeitens (Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidmann, J.G., Smith, J.A., and Struhl, K. (1987-1996) Current Proto-

cols in Molecular Biology, Greene Publishing). Der Arbeitsgang gliedert sich im wesentlichen in folgende Abschnitte:

- (1) Das Inhibitorprotein wird über selektive Salzelution des Zellwandproteins, zweifache Ionenaustauscherchromatographie und anschließende SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese bis zur Homogenität gereinigt.
- (2) Das homogene Inhibitorprotein wird tryptisch verdaut und die erhaltenen Peptide des Inhibitorproteins werden über Edman-Abbau sequenziert.
- (3) Ausgehend von den erhaltenen Peptidsequenzen werden degenerierte Primer synthetisiert und mit ihrer Hilfe über PCR DNA-Fragmente der Inhibitor-cDNA aus Gesamt-cDNA amplifiziert.
- (4) Aus Tabakzellkulturen wird eine cDNA-Bank (in einem Expressionsvektor; λ -ZAP, Fa. Stratagene) hergestellt.
- (5) Die erhaltenen Partialsequenzen der Inhibitor-cDNA (siehe (2)) werden für das Screening der cDNA-Bank eingesetzt.
- (6) Der erhaltene Vollängenklon wird nach Expression in *E. coli* (Einklonierung in den pQE-Vektor der Fa. Qiagen) hinsichtlich seiner Funktion (Invertase-Inhibition) bestätigt.
- (7) Der für das Inhibitorprotein kodierende Abschnitt des cDNA-Klons wird über PCR amplifiziert. Hierfür werden Primer mit Restriktionsschnittstellen eingesetzt, die die anschließende Ligation mit der Signal- und der Targeting-Sequenz erlauben. Am 5'-Ende wird mit der Signalsequenz, am 3'-Ende mit der Targeting-Sequenz für die Vakuole ligiert.
- Gewinnung der Signalsequenz: Die Signalsequenz wird mittels PCR aus der cDNA der Tabak-Zellwand-Invertase (Greiner, S., Weil, M., Krausgrill, S., Rausch, T. (1995) *Plant Physiology* 108: 825–826) amplifiziert (Bereich: Met¹-Val²³). Hierfür werden Primer mit Restriktionsschnittstellen eingesetzt, die die anschließende Ligation mit der Inhibitor cDNA erlauben. Gewinnung der Targeting-Sequenz: Die Targeting-Sequenz wird aus der cDNA für das Gerstenlektin amplifiziert (Bednarek, S.Y., Taikhei, N.V. (1991) *Plant Cell* 3: 1195–1206). Hierfür werden ebenfalls Primer mit Restriktionsschnittstellen eingesetzt, die die anschließende Ligation mit der Inhibitor cDNA erlauben.
- (8) Das unter (7) genannte Genkonstrukt wird 5'-seitig mit einem rübenspezifischen Promotor ligiert und das erhaltene Konstrukt in einen binären Expressionsvektor einkloniert.
- (9) Die Zielpflanze wird über eine geeignete, im Stand der Technik bekannte Transformationstechnik transformiert. Der Aufbau des für die Transformation benötigten Genkonstruktes ist in Fig. 2 dargestellt.

Patentansprüche

1. Nukleinsäure, enthaltend mindestens eine für ein Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz, wobei das Polypeptid zur Reduzierung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigt ist.
2. Nukleinsäure nach Anspruch 1, wobei die Invertase in einer Pflanzenzelle vakuolär lokalisiert ist.
3. Nukleinsäure nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Invertase aus der Zuckerrübe oder der Kartoffel

stammt.

4. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 3, umfassend die in Fig. 1 gezeigte Nukleinsäuresequenz oder Abschnitte davon.
5. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 4, weiter enthaltend mindestens eine für eine Targeting-Sequenz kodierende Nukleinsäuresequenz.
6. Nukleinsäure nach Anspruch 5, wobei die Targeting-Sequenz die vakuoläre Targeting-Sequenz des Gerstenlektins umfaßt.
7. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 6, weiter enthaltend mindestens eine für ein Signalpeptid kodierende Nukleinsäuresequenz.
8. Nukleinsäure nach Anspruch 7, wobei das Signalpeptid von einer Invertase stammt.
9. Nukleinsäure nach Anspruch 7 oder 8, wobei das Signalpeptid von der Zellwand-Invertase aus Tabak stammt.
10. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 9, weiter enthaltend mindestens eine Nukleinsäuresequenz, welche einen zur Expression in Pflanzen geeigneten Promotor umfaßt.
11. Nukleinsäure nach Anspruch 10, wobei der Promotor aus der gleichen Pflanze stammt wie die Invertase.
12. Nukleinsäure nach Anspruch 10 oder 11, wobei der Promotor ein Kartoffel- oder Zuckerrübenspezifischer Promotor ist.
13. Vektor, enthaltend die Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12.
14. Wirtszelle, enthaltend die Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12 oder den Vektor gemäß Anspruch 13.
15. Polypeptid, enthaltend mindestens einen zur Reduzierung der enzymatischen Aktivität einer Invertase befähigten Aminosäure-Sequenzabschnitt.
16. Polypeptid nach Anspruch 15, umfassend die in Fig. 1 gezeigte Aminosäuresequenz oder Fragmente davon.
17. Polypeptid nach Anspruch 15 oder 16, weiter enthaltend eine am C-Terminus des Polypeptids angeordnete Aminosäuresequenz, welche eine Targeting-Sequenz umfaßt.
18. Polypeptid nach Anspruch 17, wobei die Targeting-Sequenz die vakuoläre Targeting-Sequenz des Gerstenlektins umfaßt.
19. Polypeptid nach einem der Ansprüche 15 bis 18, weiter enthaltend eine am N-Terminus des Polypeptids angeordnete Aminosäuresequenz, welche ein Signalpeptid umfaßt.
20. Polypeptid nach Anspruch 19, wobei das Signalpeptid von einer Invertase stammt.
21. Polypeptid nach Anspruch 19 oder 20, wobei das Signalpeptid von der Zellwand-Invertase aus Tabak stammt.
22. Transgene Pflanze, enthaltend mindestens eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12.
23. Transgene Pflanze nach Anspruch 22, deren Wildtyp eine Zuckerrübe ist.
24. Transgene Pflanze nach Anspruch 22, deren Wildtyp eine Kartoffel ist.
25. Verfahren zur Herstellung einer transgenen Pflanze gemäß einem der Ansprüche 22 bis 24, worin eine Pflanzenzelle durch stabile Integration der Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12 in das genetische Material transformiert wird und die transformierte Pflanzenzelle zur transgenen Pflanze regeneriert wird.

26. Verwendung der Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung einer transgenen Pflanze mit reduziertem lagerungsbedingtem Saccharose-Verlust.

Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65